

AUTOVASTA-AINEIDEN ESIINTYVYYS EPILEPSIAA SAIRASTAVILLA LAPSILLA

Anna Kukkonen
Syventävien opintojen kirjallinen työ
Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Syyskuu 2013

Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö

ANNA KUKKONEN: AUTOVASTA-AINEIDEN ESIINTYVYYS EPILEPSIAA
SAIRASTAVILLA LAPSILLA

Kirjallinen työ, 31 s.

Ohjaaja: dosentti Kai Eriksson

Syyskuu 2013

Avainsanat: kohtausoire, immuunijärjestelmä, epileptogeneesi, antifosfolipidi

Epilepsia on monitekijäinen aivojen kohtauksellinen sairaus, ja sen syntyyn on liitetty monia geneettisiä ja ympäristö-riippuvaisia tekijöitä. Immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden ja epilepsian välistä yhteyttä on tutkittu, ja tavoitteena on ollut löytää epilepsian ilmaantumista ja vaikeahoitoisuutta ennustavia tekijöitä immuunijärjestelmän mitattavissa olevista parametreista.

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden merkitystä lapsuusiän epilepsian etiologiana ja vaikeahoitoisuutta ennustavana tekijänä. Tutkimuksessa pyrittiin selvittämään mm. autovasta-aineiden ja immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden ilmaantumisasajankohtaa ja pysyvyyttä.

Tutkimus on osa tutkimuskokonaisuutta, jonka ensimmäisessä jo julkaistussa osassa (Eriksson et al. 2001) selvitettiin tiettyjen immuunijärjestelmän toimintaa kuvaavien muuttujien esiintymistä epilepsiaa sairastavilla lapsilla. Tässä tutkimuksen seuraavassa osassa on käsitelty ensimmäisessä osassa olleiden tutkimuspotilaiden seurantanäytteitä. Osaan 1. osallistuneista tutkimuspotilaista otettiin seurantanäytteet n. yhden ja kahden vuoden kuluttua (=kevät 2000 ja kevät 2001) ensimmäisistä näytteistä. Tässä seurantatutkimuksessa arvioitiin siis 1. osan luotettavuutta vertailemalla saatuja tuloksia, eli seurantanäytteitä.

Tutkimusaineistossa eli 49 lapsipotilaan joukossa vähintään yhden vasta-aineen muutos tutkimusajan puitteissa havaittiin 26:lla lapsella, ja 13:lla oli enemmän kuin yksi poikkeava arvo. Vasta-ainetasoissa tapahtunutta muutosta tutkittiin mittaamalla kardiolipiini-, beta-2-glykoproteiini-1- ja tumavasta-aineet lasten seeruminäytteistä yhden ja kahden vuoden päästä ensimmäisestä näytteestä. Edellä mainittujen vasta-ainetasojen muutoksia tarkasteltaessa käytettiin ristiintaulukointimenetelmää muutosten ja erilaisten muuttujien mahdollisten korrelaatioiden selvittämiseksi.

Kardiolipiinivasta-aineet muuttuivat viidellä potilaalla seurannassa negatiivisiksi. Koko joukon tasolla merkittävää oli, että muutoksen negatiivinen suunta tai negatiivisena pysyminen korreloi matalaan epileptiseen kohtausaktiivisuuteen. Negatiivinen vasta-ainetaso seurannassa oli myös yhteydessä MRI-kuvien löydöksettömyyteen. B2GP1-vasta-aineet pysyivät seurannassa lähes koko populaatiolla negatiivisina. Negatiivisina pysyneiden vasta-aineiden ja kohtausfrekvenssin välillä havaittiin samankaltainen yhteys kuin aCL-vasta-aineillakin. Tumavasta-aineiden muutokset olivat aineistossa satunnaisia, mutta muutoksen suunta näytti merkitsevästi korreloivan potilaan sukupuoleen.

Kokonaisuudessaan vasta-aineiden pysyvyydestä on tutkimuksen perusteella vaikea tehdä luotettavia johtopäätöksiä aineiston pienen koon takia. Mielenkiintoista kuitenkin on, että lapsuusiän epilepsian harva kohtausfrekvenssi näytti korreloivan vasta-ainenegatiivisuuden kanssa. Todennäköistä kuitenkin on, että lapsuusiän epilepsioissa havaittujen korkeiden vasta-ainetasojen merkitys epilepsian synnyssä ja tautiaktiivisuuden osoittajana on assosiatiivinen, ja liittyy vain joihinkin tiettyihin epilepsiasyndroomiin.

Sisältö

1.	JOHDANTO.....	4
2.	KIRJALLISUUSKATSAUS.....	5
2.1.	Yleisesti.....	5
2.2.	Vasta-aineet.....	7
2.2.1.	Tumavasta-aineet.....	7
2.2.2.	Immunoglobuliinitasot.....	7
2.2.3.	Antikardioliipinivasta-aineet.....	7
2.2.4.	Beeta-2-glykoproteiini-1-vasta-aineet.....	8
2.2.5.	Keliakiaan liittyvät vasta-aineet.....	8
2.2.6.	Gangliosidivasta-aineet.....	9
2.2.7.	GAD-vasta-aineet.....	9
2.3.	Epilepsialääkkeet ja vasta-aineet.....	9
2.4.	Immunologisten muutosten suhde kuvannus- ja EEG-löydöksiin.....	10
2.5.	Uusimmat tutkimustulokset.....	10
2.5.1.	Suoraan keskushermostoon vaikuttavat vasta-aineet.....	10
2.5.2.	Epilepsian yhteys tulehdusprosesseihin.....	11
3.	TUTKIMUSMETODI.....	11
3.1.	Tutkimuksen tavoitteet.....	12
3.2.	Aineisto.....	12
3.3.	Menetelmät.....	13
4.	TULOKSET.....	14
4.1.	Aineiston kuvaus.....	14
4.2.	Mitatut vasta-aineet.....	17
4.2.1.	Kardioliipinivasta-aineet.....	17
4.2.2.	Beta-2-glykoproteiini-1-vasta-aineet.....	19
4.2.3.	Tumavasta-aineet.....	21
4.2.4.	Muut määritetyt vasta-aineet.....	23
4.3.	Muutokset vasta-ainetasoissa ja niiden suhde muuttujiin.....	23
4.3.1.	Kardioliipinivasta-aineet.....	23
4.3.2.	Beta-2-glykoproteiini-1-vasta-aineet.....	24
4.3.3.	Tumavasta-aineet.....	24
5.	POHDINTA.....	25
5.1.	Keskeiset löydökset.....	25
5.2.	Tutkimuksen heikkoudet ja vahvuudet.....	27
5.3.	Tulokset suhteessa kirjallisuuteen.....	27
5.4.	Lopuksi.....	28
6.	LÄHTEET.....	29

1. JOHDANTO

Epilepsia on monitekijäinen aivojen kohtauksellinen sairaus, ja sen syntyyn on liitetty monia geneettisiä ja ympäristö-riippuvaisia tekijöitä. Immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden ja epilepsian välillä vallitsee yhteys (Bouma PA 1992, Aarli JA 1993, Verrot D 1997), joka on kuitenkin lasten osalta edelleenkin huonosti tunnettu.

Vaikka epilepsia on erittäin yleinen sairaus, ja yksi yleisimmistä neurologisista sairauksista, noin kolmasosassa epilepsioista etiologia on edelleen tuntematon. Immunitetin ja epilepsian syntymekanismien välistä yhteyttä on tutkimuksissa perusteltu immunomodulatorisen lääkityksen teholla (steroidit ja immunoglobuliinit), autovasta-aineiden esiintymisellä epilepsiaa sairastavilla potilailla (erityisesti etiologialtaan tuntemattomissa epilepsioissa), ja systeemisiä autoimmuunisairauksia sairastavien potilaiden suurentuneella kohtausfrekvenssillä (mm. systeeminen lupus erythematosus).

Nykytiedon valossa autovasta-aineet on yhdistetty tiettyihin epilepsiatyyppeihin/oireyhtymiin, mm. Rasmussenin enkefaliitti, Westin syndrooma (l. infantiilispasmit), Landau- Kleffnerin syndrooma ja jatkuvat piikkiaallot unessa, limbinen enkefaliitti, hemikonvulsio-hemiplegia syndrooma, Battenin tauti. Näistä osassa yhteys autovasta-aineisiin on pystytty todistamaan, mutta osassa patologinen kaskadi on vielä osittain selvittämättä, mutta viitteitä autovasta-aineiden osallisuudesta on pystytty osoittamaan.

Tässä tutkimuksessa tavoitteena on selvittää immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden merkitystä epilepsian etiologiana ja vaikeahoitoisuutta ennustavana tekijänä. Tutkimuksessa pyritään selvittämään mm. autovasta-aineiden ja immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden ilmaantumisaikakohtaa ja pysyvyyttä. Tutkimus on osa tutkimuskokonaisuutta, jonka ensimmäisessä jo julkaistussa osassa (Eriksson et al. 2001) selvitettiin tiettyjen immuunijärjestelmän toimintaa kuvaavien muuttujien esiintymistä epilepsiaa sairastavilla lapsilla.

Tutkimuksen ensimmäisessä osassa fosfolipidivasta-aineiden esiintyminen oli merkittävästi yleisempää epilepsiaa sairastavilla lapsilla (44%) verrattuna verrokkilapsiin (10%). Etenkin tietyissä epilepsia/oireyhtymissä näiden vasta-aineiden esiintyminen oli erittäin yleistä, ad. 89 %. Fosfolipidivasta-ainepositiivisuutta on kirjallisuudessa arvioitu esiintyvän n. 2-5 %:lla terveestä väestöstä (Brey et al. 1990). Kysymys fosfolipidivasta-aineiden merkityksestä ja mahdollisista syy-seuraussuhteista immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden ja epilepsian välillä on siis edelleen auki.

2. KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1. Yleisesti

Antifosfolipidivasta-ainetasojen nousua on kuvattu epilepsiapotilailla monissa tutkimuksissa, niin aikuisilla (Verrot D et al. 1997, Peltola J et al. 2000, Cimaz R et al. 2006) kuin lapsillakin (Angelini L et al. 1998, Eriksson K et al. 2001, Verrotti A 2003). Antifosfolipidivasta-aineita on yleensä tiedetty olevan autoimmuunisairaiden potilaiden veressä (esim. systeeminen lupus erythematosus, jotkin muut sidekudossairaudet). Yleisesti tiedossa on myös, että fosfolipidivasta-aineita esiintyy näiden autoimmuunitautien lisäksi maligniteettien ja infektioiden yhteydessä, sekä täysin itsenäisenä ilmiönä.

Systeemisessä lupus erythematosuksessa yksi yleisimmistä taudin manifestaatioista ovat epileptiset kohtaukset, joita on n. 10-20 %:lla SLE-potilaista. (Appenzeller S 2004, Aarli J 1993). Antifosfolipidit on myös yleisesti yhdistetty tromboottisiin tapahtumiin (Harris EN 1984). Tällöin kyseessä on antifosfolipidisyndrooma, joko primaarinen tai sekundaarinen (autoimmuunisairauteen liittyvä). Antifosfolipidisyndroomaan on raportoitu liittyvän myös neurologisia oireita, kuten epilepsiaa (Cimaz R et al. 2008). Epilepsian synty antifosfolipidisyndroomassa, siihen liittyvät ilmiöt ja patogeneesi ovat kokonaisuutena vielä epäselviä. Suurimmassa osassa aiheutta käsitteleviä tutkimuksia epilepsia on yhdistetty sekundaarisena ilmiönä antifosfolipidisyndroomaan tai SLE:een

(Shoenfeld Y 2004). Antifosfolipidit ja epilepsia on siis yhdistetty monenlaisissa potilasjoukoissa, mutta vielä epäselvää on se, mihin nämä vasta-aineet vaikuttavat ja mikä niiden merkitys on epilepsian syntyprosessissa (mm. Cimaz R 2008).

Epilepsiaa sairastavilla lapsilla autovasta-aineiden esiintymistä on kuvattu lähinnä vain eräissä harvinaisissa lapsuusiän epilepsiaoireyhtymissä, kuten Rasmussenin enkefaliitissa (vasta-aineet GluR3- reseptoria vastaan, Rogers SW et al. 1994) ja tiettyjen autoimmuunisairauksien yhteydessä, kuten SLE:ssä.

Varsinaiseen lasten antifosfolipidisyndroomaan on liitetty monissa tutkimuksissa neurologisia oireita, kuten epileptisiä kohtauksia (Shoenfeld Y et al. 2004, Kalashnikova LA et al. 2005), mutta lasten osalta tämänkin tutkimustieto on niukkaa (Muscal E et al. 2010, Brey RL et al. 2011, Avcin T 2008). Antifosfolipidisyndrooman (erilaiset kriteerit kuin aikuisilla) on osoitettu lapsilla aiheuttavan varsinaisten tromboottisten verisuonitapahtumien (syvät laskimotukokset, iskeemiset kohtaussyndroomat, superiorisen sagittaalisinuksen trombit, Budd-Chiarin syndrooma, munuaisten, lisämunuaisten, keuhkojen ja sydämen valtimo- ja laskimotrombit) lisäksi non-tromboottisia seurauksia, kuten trombositopenia, hemolyyttinen anemia, sydämen läppäviat sekä neurologiset manifestaatiot (Avcin T 2008, Constantin T 2009). Antifosfolipidisyndrooman neurologisia manifestaatioita ovat cerebrovaskulaariset sairaudet, päänsärky, migreeni, dementia, epilepsia, kognitiivinen dysfunktio, chorea, psykoosi, optinen neuropatia, myelitis transversa, sensorineuraalinen kuulonalenema (Antunes MC 2004). Lapsuusiässä esiintyvän antifosfolipidisyndrooman on ajateltu myös eroavan aikuisten vastaavasta siten, että lapsilla tavataan useasti tilapäisiä ja ohimeneviä non-trombogeenisiä antifosfolipidivasta-aineita etenkin infektioiden jälkeen (Hunt BJ 2008). Tällaiset ohimenevät infektion indusoimat vasta-aineet ovat non-patogeenisiä (Cimaz R 2006).

Myös vaikeiden lapsuusiän epilepsioiden hyvät hoitovasteet immunologisille hoidoille antavat viitettä siitä, että tietyt epilepsiatyypit olisivat osittain immunologisesti säädeltyjä prosesseja (Villani F et al. 2002, van Engelen BG et al. 1994). Esimerkiksi Rasmussenin enkefaliitin hoidossa on saatu immunomodulatorisella lääkityksellä hyviä tuloksia. Muita vaikeita lapsuusiän epilepsioita, joissa IVIg:sta on positiivisia tutkimustuloksia ovat Westin syndrooma, Lennox-Gastautin syndrooma ja Landau-Kleffnerin syndrooma (Villani F et al. 2002).

2.2. Vasta-aineet

2.2.1. Tumavasta-aineet

Tumavasta-aineita esiintyy aiempien tutkimusten perusteella epilepsiaa sairastavista lapsipotilaista 7-47 % (Eriksson K et al. 2001, Verrotti A et al. 2003, Cimaz R et al. 2006, Constantin T 2009), aikuisilla 8-25 % (Verrot D et al. 1997, Peltola J et al. 2000). Vasta-ainetasojen nousun merkitys epilepsian patogeneesissä on vielä epäselvä. Esimerkiksi tiettyjen lääkityksien (fenytoini, karbamatsepiini, valproaatti) vaikutuksia tumavasta-ainetasoihin on tutkittu (Verrot D et al. 1997, Peltola J et al. 2000). Epileptisten kohtausten aktiivisuuden on ajateltu myös korreloivan tumavasta-ainetasojen kanssa. Tumavasta-ainetasojen nousua on myös yritetty yhdistää tiettyihin epilepsia/oireyhtymäryhmiin. Tumavasta-aineiden esiintymisestä epilepsiaa sairastavilla lapsilla on myös negatiivista tutkimustietoa (Markic J 2007). Aikuisilla tehdyissä tutkimuksissa ei merkitsevää tumavasta-aineiden nousua epilepsiaa sairastavilla potilailla havaittu terveisiin verrokkeihin verrattuna (Debourdeau P et al. 2004, Ranua J et al. 2004, Liimatainen S. et al. 2009). Terveessä väestössä tumavasta-aineiden esiintyvyydeksi on arvioitu alle 5 %.

2.2.2. Immunoglobuliinitasot

Immunoglobuliinitasojen mataluutta (IgA tason mataluus, IgA-puutos) on myös kuvattu epilepsiaa sairastavilla potilailla, mutta niidenkin yhteys mm. käytettyyn lääkitykseen, autoimmuunisairauksiin ja toistuviin infektioihin on edelleen epäselvä (Bouma PA 1992, Constantin T 2009). IgA-tason mataluus on esimerkiksi pystytty liittämään nykyiseen tai aikaisemmin käytyyn fenytöinilääkitykseen (Ranua J et al. 2005). IgG ja IgM -pitoisuuksista on ristiriitaisempaa tietoa kuin IgA:sta (Bostantjopoulou S et al. 1994, Gilhus NE et al. 1989, Ranua J et al. 2005). Suurin osa tutkimuksista on tehty aikuispotilailla, ja lasten osalta luvut ovat vielä osin melko epäselvät.

2.2.3. Antikardioliipinivasta-aineet

Antikardiolipiinivasta-aineet on monissa tutkimuksissa yhdistetty epilepsiaan niin aikuisilla (Verrot et al. 1997, Peltola et al. 2000b) kuin lapsillakin (Angelini et al. 1998, Yoshimura et al. 2001, Eriksson et al. 2001, Verrotti A et al. 2003). Myöhemmissä tutkimuksissa on myös todistettu, etteivät aCL-pitoisuudet olisi epilepsiapotilailla verrokkeja korkeampia (Ranua J et al. 2003, Debourdeau P et al. 2004, Ranua J et al. 2004), mutta toisaalta epilepsiapotilailla olleet aCL:t on kyetty yhdistämään epilepsian kestoon ja huonoon kohtauskontrolliin. Ranua J et al. vuonna 2004 tekemässä kattavassa tutkimuksessa partiaalista epilepsiaa sairastavilla aikuispotilailla, joilla kohtausfrekvenssi oli korkea (yli 1 kertaa kuukaudessa) oli todenäköisemmin IgG-luokan antikardiolipiinivasta-aineita kuin matalamman kohtausfrekvenssin omaavilla. Liimatainen S. et al. vuonna 2009 tekemässä tutkimuksessa antikardiolipiinipitoisuudet olivat refraktaarista fokaalia epilepsiaa sairastavilla potilailla koholla, liittyen myöskin selkeästi näytteiden keräämistä edeltäneeseen korkeaan kohtausaktiivisuuteen. K.A. Lehtimäen et al. vuonna 2011 tekemässä tutkimuksessa aCL-vasta-aineet olivat myöskin selkeästi koholla potilailla, joilla epilepsia liittyi kehityshäiriöön. Tässäkin tutkimuksessa korkea kohtausfrekvenssi yhdistyi kohonneisiin aCL-vasta-aineisiin. Myös Gerasimova MM et al. vuonna 2007 tekemässä tutkimuksessa korkeat aCL-pitoisuudet assosioituivat epilepsiaan ja korkeaan kohtausaktiiviteettiin. Tutkimukset tukevat siis käsitystä siitä, että epileptiset kohtaukset aiheuttavat sekundaarista immuunijärjestelmän aktivaatiota kohtauksiin liittyvästä neuronituhosta johtuen, ja tätä tapahtumakaskadia taas puolestaan reflektoi antifosfolipidien tuotto.

2.2.4. Beeta-2-glykoproteiini-1-vasta-aineet

Beta-2-glykoproteiini-1-vasta-ainepositiivisuus on myös monissa tutkimuksissa yhdistetty epilepsiaan (Liimatainen S et al. 2009, Lehtimäki KA et al. 2011). Aikuisilla tehdyissä tutkimuksissa B2GP1:ta on ristiriitaistakin tutkimustietoa (Ranua J et al. 2004, Debourdeau P et al. 2004). B2GP-1-vasta-aineet on myös kyetty yhdistämään tuoreeseen kohtausaktiiviteettiin (Liimatainen S et al. 2009, Lehtimäki KA et al. 2011).

2.2.5. Keliakiaan liittyvät vasta-aineet

Keliakiaan on osoitettu liittyvän monia immunologisesti välittyviä sairauksia, kuten tyypin 1 diabetesta, autoimmuunityreoidiittia ja Sjögrenin syndroomaa (PengiranTengah DS 2002). Keliakiaan on myös yhdistetty neurologisia oireita ja vasta-aineiden korkeita seerumipitoisuuksia

(Vascotto M et al. 1997). Ranua et al. vuonna 2005 tekemässä laajassa tutkimuksessa ei epilepsian ja keliakian välistä yhteyttä kuitenkaan asta-ainetasojen nousulla pystytty osoittamaan. Tutkimuksessa tarkasteltiin IgA ja IgG-luokan antigliadiini-, antiendomysium- ja kudosten transglutaminaasivasta-aineita. Keliakian ja epilepsian välisen yhteyden epätodennäköisyyttä tukevaa tutkimustietoa on myös ulkomaisista tutkimuksista (PengiranTengah DS 2002). Lapsipotilaillakaan yhteyttä keliakian ja kohtausoireiden välille ei ole pystytty osoittamaan (Fois A et al. 1994).

2.2.6. Gangliosidivasta-aineet

Gangliosidivasta-aineet on kuvattu myös kokeellisissa malleissa epileptogeenisiksi, ja niiden esiintyminen on liitetty lapsuusiässä alkaneisiin hoitoresistentteihin epilepsioihin (Bartolomei F et al. 1996). Peltola et al. vuonna 1999 tekemässä tutkimuksessa vaikeahoitoisten epilepsiapotilaiden aineistossa ei ollut merkitsevää eroa GM1-esiintyvyyksissä aikuisten epileptikkojen ja verrokkien välillä.

2.2.7. GAD-vasta-aineet

Anti-GAD vasta-aineet on diabeteksen ohella liitetty harvinaisiin neurologisiin sairauksiin, kuten stiff-man syndrooma ja pikkuaivodegeneraatio. Myös vaikeahoitoista paikallisalkuista epilepsiaa sairastavilla aikuisilla esiintyi Peltola et al. aineistossa vasta-ainetasoja. Lapsilla tehdyissä tutkimuksissa (Rantala H et al. 1999, Verrotti a et al. 2003) ei merkittäviä anti-GAD vasta-ainetasoja löydetty. Myöhemmin GADA positiivisuus on liitetty temporaalilohkoepilepsiaan (Liimatainen S et al. 2012), ja näillä potilailla on havaittu myös muita autovasta-aineita viitaten autoimmuunietologiaan TLE:n taustalla. GADA-positiivisuus on myös pystytty yhdistämään tiettyihin epilepsiatyyppeihin vuonna 2009 tehdyssä Errichiello L et al. tekemässä tutkimuksessa.

2.3. Epilepsialääkkeet ja vasta-aineet

Monissa tutkimuksissa on tutkittu epilepsialääkkeiden vaikutusta antifosfolipideihin. Fenytoiinilla ja karbamatsepiinilla on ajateltu olevan vaikutuksia soluvälitteiseen ja humoraaliseen immunitettiin (Basaran N et al. 1994, Pacifici R et al. 1991, Sorrell TC 1975). Monet tutkimukset

ovatkin osoittaneet, ettei antikonvulsiiivisella lääkityksellä olisi yhteyttä antifosfolipiditasojen muutokseen. Esimerkiksi Peltola J et al. vuonna 2000 tekemässä tutkimuksessa myös vastikään diagnoosin saaneilla/ lääkityksen aloittaneilla epilepsiapotilailla oli korkeammat antifosfolipiditasot verrokkeihin verrattuna.

2.4. Immunologisten muutosten suhde kuvannus- ja EEG-löydöksiin

Aiemmin tehdyissä vasta-ainetasojen muutoksia epilepsiaa sairastavilla potilailla selvittävissä tutkimuksissa on myös yritetty yhdistää mahdollisia immunologisia muutoksia kuvannuslöydöksiin ja EEG-löydöksiin. Näiden muuttujien ja immunologisten muutosten välillä ei ole monissakaan tutkimuksissa havaittu lapsipotilailla merkittävää yhteyttä (Angelini L et al. 1998). Toisaalta taas iskeemiset muutokset vasta-ainepositiivisten lapsipotilaiden MRI:ssa on yhdistetty perinataalisiin anoksisiin muutokseen, jotka ovat siis mahdollisesti aiheuttaneet symptomaattisen epilepsian näille potilaille (Cimaz R et al. 2002).

2.5. Uusimmat tutkimustulokset

Uusimmat tutkimustulokset tukevat käsitystä siitä, että joillain epilepsiatyypeillä olisi autoimmuunitausta. Käsitystä puoltavat näiden epilepsiaoireyhtymien liittyminen autoimmuunitauteihin (SLE, Hashimoton enkefalopatia), oireyhtymien aggressiivinen progressio, akuutti alkua ja hyvä vaste immunoterapialle (Bien CG et al. 2011). Joukko suoraan keskushermostoon vaikuttavia vasta-aineita on löydetty, ja ne on eritelty oireidensa mukaan erillisiksi kliiniseksi syndroomiksi, joihin liittyy moneen neurologisena oireena epileptisiä kohtauksia (Vincent A et al. 2011, Irani SR et al. 2011). Näitä oirehtymiä on tutkittu myös lapsipotilailla. Avainasemassa olevat vasta-aineet ovat VGKC-kompleksivasta-aineet, NMDA-reseptorivasta-aineet ja GAD-vasta-aineet.

2.5.1. Suoraan keskushermostoon vaikuttavat vasta-aineet

Autovasta-aineisiin liittyvät epilepsiat on mahdollista jakaa pääasiallisesti temporaalilohkoon vaikuttaviin syndroomiin (mm. klassinen limbisen enkefaliitti) sekä diffuusisti vaikuttaviin

enkefalopatioihin. Keskushermostoon vaikuttavista vasta-aineista VGKC-kompleksin (jänniteriippuvainen kaliumkanava) vasta-aineet on yhdistetty Morvanin syndroomaan, limbiseen enkefaliittiin sekä dystonisiin käden ja kasvojen samanaikaisiin kohtausoireisiin (FBDS). Näihin kaikkiin on osoitettu liittyvän kohtausoireita. NMDA-reseptorin (N-metyyli-D-aspartaatti) vasta-aineisiin on liitetty enkefalopatia, johon on niin ikään liitetty kohtausoireita. Huomionarvoista on, että tätä syndroomaa on tavattu erityisesti nuorilla lapsilla. (Vincent A et al. 2011) Edellä mainituissa syndroomissa vasta-aineet suuntautuvat suoraan membraaniproteiinien solunulkoisia osia kohtaan, joten ne ovat erittäin todennäköisesti itsenäisinä patogeenisia. Tämän takia potilaita on perusteltua hoitaa immunoterapian ja kohtauslääkkeiden kombinaatiolla. Muita suoraan neuroneiden pintakomponentteihin vaikuttavia vasta-aineita ovat GABA-reseptorivasta-aineet (gamma-aminovoihappo) ja AMPA-reseptorivasta-aineet (alfa-amino-3-hydroksi-5-metyyli-4-isoksaalipropionihappo). Nämä vasta-aineet aiheuttavat niin ikään limbistä enkefaliittia ja temporaalilohkon kohtauksia (Bien CG 2011).

2.5.2. Epilepsian yhteys tulehdusprosesseihin

Epilepsiat, joilla ei ole immunologista taustaa on kyetty yhdistämään uusimmissa tutkimuksissa puolestaan tulehdusprosesseihin (Vezzani A et al. 2011). Epilepsian on ajateltu etiopatogeneettisesti yhdistyvän enkefaliitteihin, jopa niin päin että vammautuneella aivoalueella alkaa tulehdus kun epilepsia kehittyy (Vezzani A et al. 2011). Tulehduksen ajatellaan näissä malleissa sekä aiheuttavan kohtausoireita, että pitävän yllä kohtausaktiiviteettia. Tulevaisuudessa anti-inflammatorisen lääkityksen kehittäminen epilepsiaan voisikin olla tätä kautta mahdollisesti suunniteltavissa.

3. TUTKIMUSMETODI

3.1. Tutkimuksen tavoitteet

Tässä tutkimuksen seuraavassa osassa on käsitelty ensimmäisessä osassa olleiden tutkimuspotilaiden seurantanäytteitä. Osaan 1. osallistuneista tutkimuspotilaista otettiin seurantanäytteet n. yhden ja kahden vuoden kuluttua (=kevät 2000 ja kevät 2001) ensimmäisistä näytteistä. Tässä seurantatutkimuksessa arvioidaan siis 1. osan luotettavuutta vertailemalla saatuja tuloksia, eli seurantanäytteitä. Tutkimuskokonaisuuden tavoitteena on selvittää tiettyjen immuunijärjestelmän toimintaa kuvaavien muuttujien esiintymistä epilepsiaa sairastavilla lapsilla (osa 1), ja immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden merkitystä epilepsian etiologiana ja vaikeahoitoisuutta ennustavana tekijänä (tässä jatko-osassa). Tutkimuksessa pyrittiin selvittämään mm. autovasta-aineiden ja immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden ilmaantumisajankohtaa ja pysyvyyttä.

3.2. Aineisto

Tutkimus on toteutettu Tampereen Yliopistollisen sairaalan lastenneurologisessa yksikössä. Tutkimusjoukon muodostivat siten 49 epilepsiaa sairastavaa TAYS:n lastenneurologian yksikön seurannassa olevaa alle 16-vuotiasta potilasta. Tutkimukseen sisällytettiin potilaita seuraavin kriteerein: 1) luotettava epilepsiadiagnoosi, millä tahansa etiologialla, 2) ei osoitettavissa olevaa tai oireita immuunijärjestelmän sairauksista, sidekudos- tai reumaattisista sairauksista, akuuteista infektioista tai postnataaleista vaskulaarisista sairauksista, 3) ikä 16 vuotta tai vähemmän..

Tutkimuksen ensimmäisessä osassa (raportoitu, Eriksson et al. 1999) selvitettiin epilepsiaa sairastavilla lapsilla esiintyvien immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden yleisyyttä sekä näiden korreloimista esim. kohtaus/epilepsia/epilepsiasyndroomatyyppeihin, käytettyyn lääkkitykseen, etiologisiin tekijöihin, epilepsian keston ja viimeisimmän kohtauksen ajankohtaan. Tämän lisäksi selvitettiin mahdollisten systeemisten immunologisten sairauksien yleisyyttä ja oireita epilepsiaa sairastavilla lapsilla. Keskeisimmät tulokset osoittivat epilepsiaa sairastavilla lapsilla tilastollisesti merkitsevästi kontroleja enemmän vasta-ainepositiivisuutta, etenkin fosfolipidivasta-aineissa. Näiden vasta-ainepitoisuuksien esiintyminen ei korreloinut ikään, sukupuoleen tai käytettyyn epilepsialääkkitykseen, mutta kylläkin epilepsia/epilepsiasyndroomatyyppiin. Tämä tutkimuksen ensimmäinen osa on julkaistu *Epilepsy Research* -lehdessä vuonna 2001. Tutkimuksen

ensimmäisessä osassa tutkimusjoukon muodostivat samat 49 epilepsiaa sairastavaa TAYS:n lastenneurologian yksikön seurannassa olevaa alle 16-vuotiasta potilasta. Ensimmäisessä osassa verrokkiryhmän muodosti lisäksi 20 samanikäistä tervettä lasta. Tässä tutkimuksessa ei käytetty verrokkiryhmää, vaan vasta-ainetasojen muutoksia tarkasteltiin epilepsiaa sairastavien lasten joukossa.

3.3. Menetelmät

Tutkimukseen osallistuvilta potilailta on kerättiin taustatiedot sairaudesta sairaskertomustiedoista retrospektiivisesti, sekä poliklinikkakäyntien yhteydessä kliinisin tutkimuksin ja tarkennetulla anamneesilla. Tutkimukseen osallistuneista potilaista täytettiin strukturoitu tiedonkeruulomake, joka sisälsi demografisen datan, tiedon epilepsian etiologiasta ja kestosta, kohtaus/epilepsia/oireyhtymätyypin, kohtausfrekvenssin, lääkityksen, viimeisimmän kohtauksen ajankohdan, muut neurologiset oireet, muiden sairauksien oireet sekä mahdollisten autoimmuunisairauksien oireet. Tiedot viimeisimmästä sairaushistoriasta, aivojen kuvantutkimuksista ja EEG:stä kerättiin sairaskertomustiedoista. Kliinisen ja neurologisen tutkimuksen suoritti lastenneurologi.

Näytteet otettiin potilailta tavanomaisten poliklinikkakäyntien tai rutiinitoimenpiteiden yhteydessä, eikä niistä koitunut ylimääräistä näytteenottotarvetta. Tutkimuksen ensimmäinen osa on hyväksytty Tampereen Yliopistollisen Sairaalan eettisessä toimikunnassa 27.19.1998 ja tämä toinen osa 23.5.2000, # 98190.

Potilailta otettiin verinäytteet tutkimusta varten sellaisten polikliinisten rutiiniseurantakäyntien tai toimenpiteiden yhteydessä, joissa potilaalta otettaisiin muutenkin verinäytteitä aiemman suunnitelman mukaisesti. Tarvittava näytemäärä on 20 ml laskimoverta/ potilas. Kerätyt näytteet olivat kvantitatiiviset immunoglobuliinitasot (luokan G, I ja M immunoglobuliinit), kardiolipiinivasta-aineet, beeta-2-glykoproteiini-1-vasta-aineet, tumavasta-aineet, gliadiinivasta-aineet, endomyciumvasta-aineet, transglutaminaasivasta-aineet, gangliosidivasta-aineet ja GAD-vasta-aineet. Nämä näytteet otettiin ensimmäisellä näytteenottokerralla. Seurantanäytteet otettiin yhden ja kahden vuoden päästä ensimmäisistä, ja niillä määritettiin ainoastaan kardiolipiini-, beta-2-

glykoproteiini-1- ja tumavasta-ainetasot. Tutkimuksessa arvioitiin siis vain näiden vasta-ainetasojen muutoksia (aCL, b2GP1 ja ANA).

IgG-luokan kardioliipinivasta-aineet ja beeta-2-glykoproteiini-1-vasta-aineet mitattiin käyttäen kaupallista analyysia, valmistajan ohjeiden mukaisesti. Kardioliipinivasta-aineissa arvot välillä 0-14 GPL luokiteltiin negatiivisiksi, 15-20 GPL mataliksi positiivisiksi ja yli 20 GPL positiivisiksi. Beta-2-glykoproteiini-1-vasta-aineissa arvot yli 20 SGU luokiteltiin positiivisiksi. IgG-luokan tumavasta-aineet määritettiin vakioidulla epäsuoralla immunofluoresenssilla käyttämällä niin ikään kaupallista menetelmää. Muut vasta-aineiden analyysit suoritettiin noudattamalla standardoituja laboratoriomääryksiä klinisen mikrobiologian laitoksella Tampereen Yliopistollisessa keskussairaalassa.

Tilastollinen analyysi suoritettiin käyttäen SPSS 8.0 Windowsille. Korrelaatiot vasta-ainetasojen muutosten ja muuttujien välillä laskettiin käyttämällä ristiintaulukointia. Näin pienen aineiston ollessa kysymyksessä, luotettavuuden arviointiin käytettiin Fischerin eksakti-testiä. Tilastollisesti merkittäviksi P-arvoksi luokiteltiin P-arvot, jotka olivat pienempiä kuin 0,05.

4. TULOKSET

4.1. Aineiston kuvaus

Tutkimusaineistossa oli poikia 20 (40,8 %) ja tyttöjä 29 (59,2 %). Keskimääräinen ikä oli 9,61 vuotta ja vaihteluväli 1,83 - 16,33 vuotta. Keskimääräinen epilepsian alkamisikä oli aineiston potilailla 5,87 vuotta (vaihteluväli 0,08 – 13,75), ja epilepsian keskimääräinen kesto oli 3,73 vuotta (vaihteluväli 0,00 – 13,17). Tutkimuksessa havaittiin, että 26 lapsella (53,1 %) oli vähintään yksi poikkeava vasta-ainearvo. 13 lapsella (26,5 %) havaittiin poikkeavia vasta-ainetasoja useampi kuin yksi.

Tutkimusaineistossa fokaalista, idiopaattista epilepsiaa sairasti 20 potilasta (40,8 %), fokaalista symptomaattista epilepsiaa 7 potilasta (14,3 %), yleistynyttä idiopaattista epilepsiaa 10 potilasta (20,4 %), yleistynyttä symptomaattista epilepsiaa 8 potilasta (16,3 %) ja sekamuotoista epilepsiaa 4 potilasta (8,2 %). Aineiston ominaisuudet epilepsiasyndroomatyypin mukaan, Taulukko 1.

Kohtausfrekvenssi tutkimusaineistossa vaihteli siten, että 2 (4,1 %) potilasta sai kohtauksia päivittäin, 1 (2,0 %) potilas viikoittain, 4 (8,2 %) potilasta kuukausittain, 5 (10,2 %) potilasta harvemmin kuin kerran kuukaudessa, 14 (28,6 %) potilasta harvemmin kuin kerran vuodessa ja 23 (46,9 %) potilasta oli ollut yli kahden vuoden ajan kohtauksettomia.

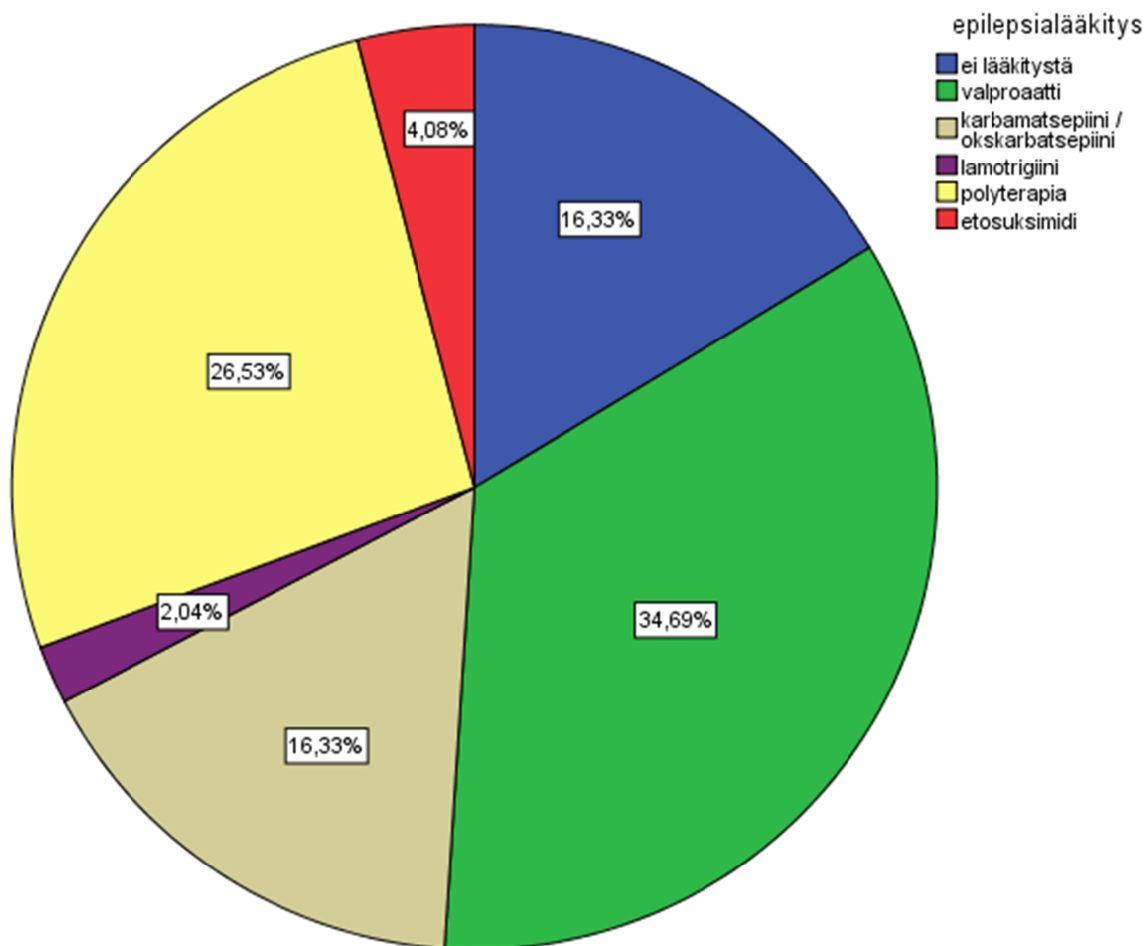
Epilepsialääkitys oli käytössä tutkimusaineistosta 41 potilaalla (83,7 %). 8 potilaalla (16,3 %) ei siis ollut lääkitystä käytössä. Lääkitystä käyttävistä 17 potilaalla (34,7 %) käytössä oli valproaatti, 8 potilaalla (16,3 %) karbamatsepiini tai okskarbatsepiini, lamotrigiinia käytti yksi potilas ja etosuksimidia 2 potilasta. Polyterapiaa (=useampi kuin yksi lääke käytössä) sai 13 potilasta (26,5 % lääkitystä saavista). Lääkkeiden osuudet, Kuvio 1.

Kuvannustutkimuksessa (CT ja/ tai MRI) poikkeava löydös havaittiin 10 potilaalla (20,4 %). Lopuilla 39 potilaalla löydös oli normaali.

EEG-löydös oli 9 potilaalla (18,4 %) normaali. Fokaalinen poikkeavuus havaittiin 15 potilaalla (30,6 %), yleistynyt poikkeavuus 12 potilaalla (24,5 %) ja multifokaalinen poikkeavuus tai yleishäiriö 13 potilaalla (26,5 %).

	Fokaalinen idiopaat (n=20)	Fokaalinen symptomaat (n=7)	Yleistynyt idiopaat(n=10)	Yleistynyt symptomaat (n=8)	Sekamuotoinen (n=4)
Tytöjä	15	4	6	3	1
Poikia	5	3	4	5	3
Ikä (v, keskiarvo)	10,2	8,2	10,3	7,7	11,4
Keskimääräinen epilepsian alkamisikä (v)	6	4,7	6,8	4,7	7
Keskimääräinen epilepsian kesto (v)	4,1	3,1	3,4	3	4,6
Kohtausfrekvenssi keskimäärin	harvemmin kuin kerran vuodessa	harvemmin kuin kerran kuukaudessa	yli 2 vuoden remissio	harvemmin kuin kerran vuodessa	harvemmin kuin kerran kuukaudessa
Kuvannusmuutoksia	alle puolella	yli puolella	alle puolella	alle puolella	alle puolella

Taulukko 1. Aineiston ryhmittely epilepsiasyndrooman mukaan ja alaryhmien ominaisuudet.



Kuvio 1. Käytössä olleet epilepsialääkkeet ja niiden prosenttiosuudet.

4.2. Mitatut vasta-aineet

4.2.1. Kardioliipiinivasta-aineet

Kardioliipiinivasta-aineet olivat ensimmäisellä mittauskerralla negatiiviset 30 potilaalla (61,2 %), matalat positiiviset (15-20 GPL) 10 potilaalla (20,4 %) ja positiiviset (>20 GPL) 9 potilaalla (18,4 %). Toisella mittauskerralla aCL-vasta-aineet olivat negatiiviset 37 potilaalla (75,5 %), matalat positiiviset 2 potilaalla (4,1 %) ja positiiviset 3 potilaalla (6,1 %). Toisen mittauskerran kontrollinäyte oli otettu 42 potilaalta (85,7 %) ja näin ollen puuttui 7 potilaalta. Kolmannella mittauskerralla aCL-vasta-aineet olivat negatiiviset 23 potilaalla (46,9 %), matala positiivinen 1

potilaalla (2,0 %) ja positiivinen 1 potilaalla (2,0 %). Viimeinen kontrollinäyte puuttui 24 potilaalta (49,0 %), ja edustettuina oli siis vain 51 % tutkimusjoukosta.

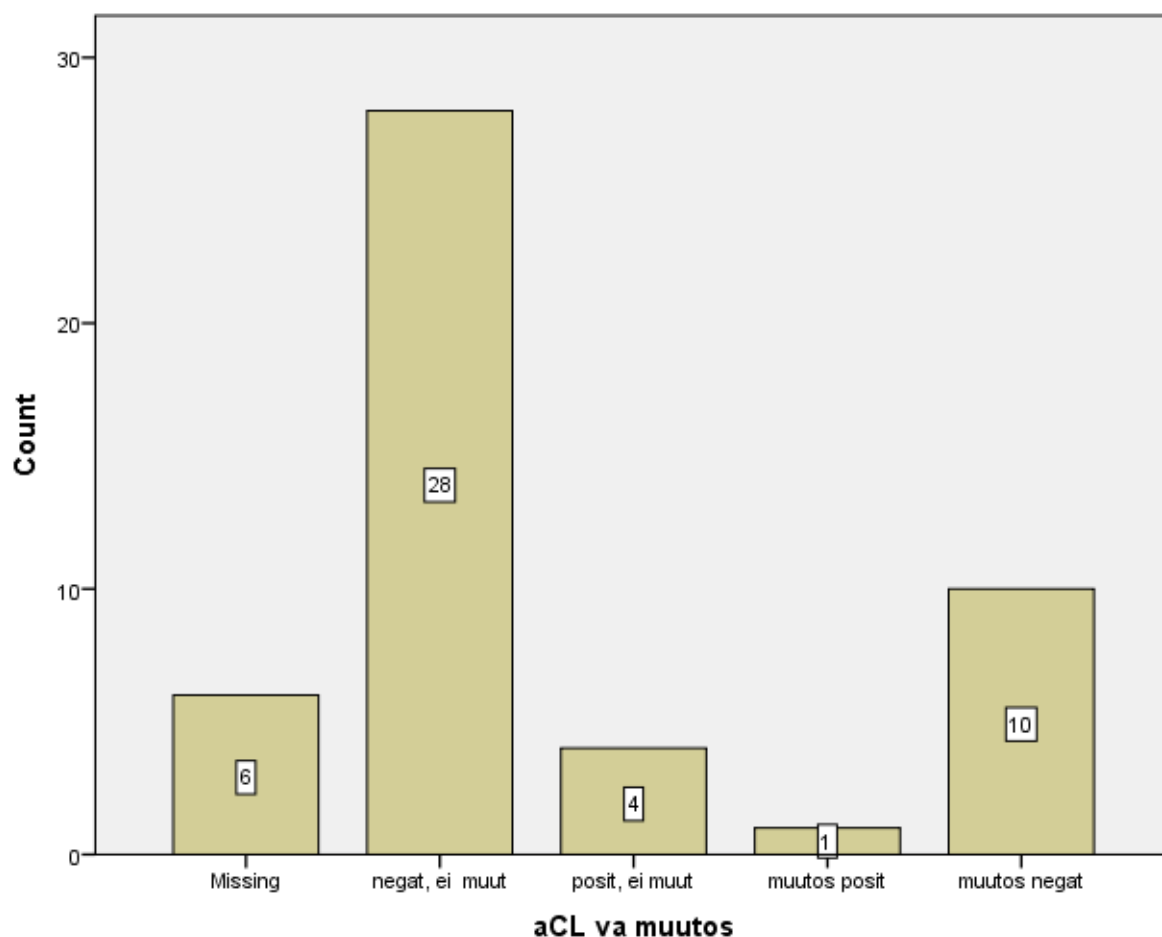
Kardioliipinivasta-aineissa 28 potilaalla (57,1 %) arvot olivat kaikkien mittausten ajan negatiiviset, eikä muutosta tapahtunut mihinkään suuntaan.

Neljän potilaan (8,2 %) arvot pysyivät seurannassa positiivisina, eikä muutosta kokonaisuudessaan tapahtunut. Heistä kahdella oli mittaustulos jokaiselta mittauskerralta, eli kolme arvoa. Toisella kardioliipinivasta-aineet olivat ensimmäisellä mittauskerralla positiiviset, seuraavalla negatiiviset ja viimeisellä mittauskerralla jälleen positiiviset. Yhdellä ainoalla potilaalla kaikki kolme seuranta-arvoa olivat positiiviset. Kahdella potilaalla positiivinen mittaustulos seurannassa perustui vain kahteen positiiviseen kontrolliarvoon.

Yhden potilaan (2,0 %) aCL-vasta-ainetaso muuttui seurannassa positiiviseksi. Tältä potilaalta puuttui viimeinen mittauskerta, joten positiivisen muutoksen pysyvyyttä on epäluotettavaa ennustaa vain näiden kahden arvon perusteella.

Negatiiviseen suuntaan tapahtui muutos kymmenellä (20,4 %) potilaalla. Puolella heistä mittauskertoja oli vain kaksi, joten muutoksen pysyvyyden arviointi ei onnistunut luotettavasti. Puolestaan viidellä mittauskertoja oli kolme. Heillä kaikilla negatiiviseen muutokseen liittyi ilmiönä se, että ensimmäinen arvo oli positiivinen, ja kaksi seuraavaa negatiivisia. Muutos pysyi siis vuoden seurannan jälkeen negatiivisena. Näistä viidestä potilaasta neljällä ensimmäinen arvo oli matala positiivinen (matala positiivinen aCL-tiitteri 15-20 GPL), ja vain yhdellä luokiteltavissa yksiselitteisesti positiiviseksi (positiivinen aCL-tiitteri < 20 GPL). Varsinaiseen negatiiviseen muutokseen yhdistettävissä olevia seikkoja on epäluotettavaa arvioida näin pienen potilasjoukon perusteella.

Muutoksen suuntaa ei pystytty ollenkaan arvioimaan kuudella potilaalla (12,2 %:lla) kummankin kontrollinäytteen puuttumisen vuoksi. Muutokset ja niiden suunnat, Kuvio 2.



Kuvio 2. ACL-vasta-aineiden muutokset tutkimuspopulaatiossa.

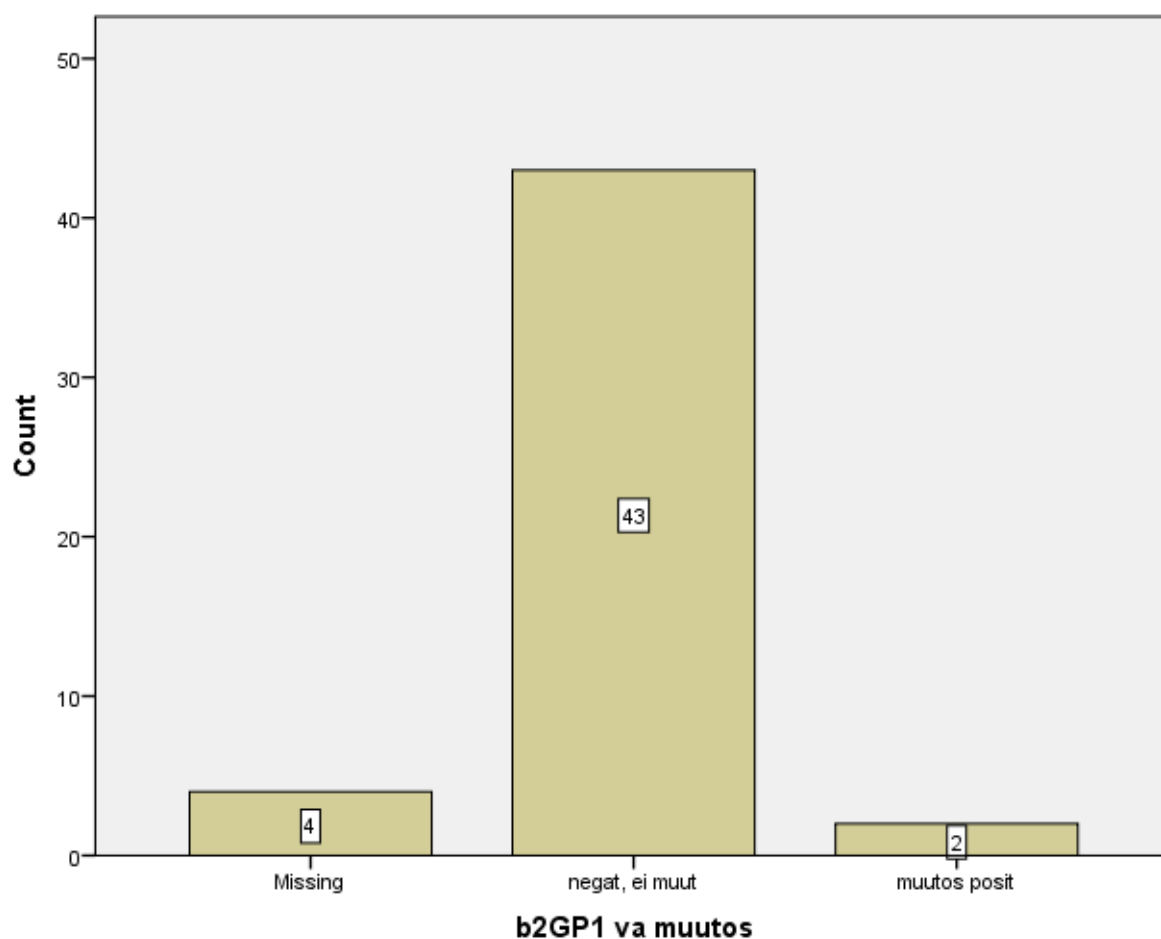
4.2.2. Beta-2-glykoproteiini-1-vasta-aineet

Beta-2-glykoproteiini-1-vasta-aineet olivat ensimmäisellä mittauskerralla negatiiviset koko potilasryhmällä. Ensimmäinen mittausnäyte oli saatu kerättyä kattavasti koko ryhmältä. Toisella mittauskerralla näyte oli negatiivinen 42 potilaalla (85,7 %) ja positiivinen yhdellä potilaalla (2,0 %). Kuuden potilaan (12,2 %) näyte puuttui toiselta mittauskerralta. Kolmannella mittauskerralla b2GP1-vasta-aineet olivat negatiiviset 23 potilaalla (46,9 %) ja positiiviset yhdellä potilaalla (2,0 %). Viimeinen kontrollinäyte puuttui 24 potilaalta (49,0 %), joten edustettuna oli vain 51 % tutkimusjoukosta.

B2GP1-vasta-ainetasoissa tapahtunut muutos oli kahdella potilaalla positiivinen (4,1 %). Heistä toisella mittauskertoja oli vain kaksi, joten toisen kontrollinäytteen puuttumisen johdosta muutoksen pysyvyyden arviointi on epäluotettavaa. Yhden potilaan B2GP1-vasta-ainetasoissa havaittu muutos oli pysyvää tutkimuksen seuranta-ajan puitteissa. Hänellä kaksi ensimmäistä mittausarvoa olivat negatiiviset, ja viimeisin positiivinen. Yksittäistapauksen ollessa kyseessä löydöksen yleistettävyys lienee tosin myös tässä yhteydessä heikkoa.

Negatiivista muutosta vasta-ainetasoissa ei havaittu kenelläkään. Samoin positiivisia vasta-ainetasoja ilman minkäänlaista muutosta ei havaittu. 43 potilaan (87,8 %) vasta-ainetaso pysyi koko tutkimusajan negatiivisena.

Neljän potilaan (8,2 %) b2GP1-vasta-ainetason muutosta ei pystytty arvioimaan ollenkaan molempien puuttuvien kontrollinäytteiden vuoksi. Muutokset vasta-aineissa ja niiden suunnat, Kuvio 3.



Kuvio 3. B2GP1-muutokset ja niiden suunnat tutkimuspopulaatiossa.

4.2.3. Tumavasta-aineet

Tumavasta-ainetaso oli ensimmäisellä mittauksella positiivinen 9 potilaalla (18,4 %) ja negatiivinen 40 potilaalla (81,6 %). Toisella mittauksella ANA-vasta-ainepositiivisia oli aineistosta 3 potilasta (6,1 %) ja negatiivisia 39 potilasta (79,6 %). Toinen kontrollinäyte puuttui 7 potilaalta (14,3 %). Viimeinen kontrollinäyte oli positiivinen 3 potilaalla (6,1 %) ja negatiivinen 22 potilaalla (44,9 %). Viimeinen kontrollinäyte puuttui 24 potilaalta (49,0 %), joten tutkimusjoukosta ainoastaan 51 % oli edustettuna tuloksissa.

ANA-vasta-ainetaso pysyi tutkimusajan puitteissa negatiivisena 34 potilaalla (67,3 %), eikä kokonaisuudessaan seuranta-ajan päätyttyä muutosta alkuarvoon havaittu. Näistä 33 potilaalla arvot olivat kaikkina mittauksena (kaksi tai kolme mittausta) negatiiviset. Yhden potilaan vasta-ainetaso oli ensimmäisellä mittauksella negatiivinen, toisella positiivinen, ja viimeisellä mittauksella arvo muuttui takaisin negatiiviseksi. Kokonaisuudessaan muutosta ei varsinaisesti arvioitu seurannassa tapahtuneen, ja tason luokiteltiin pysyneen negatiivisena.

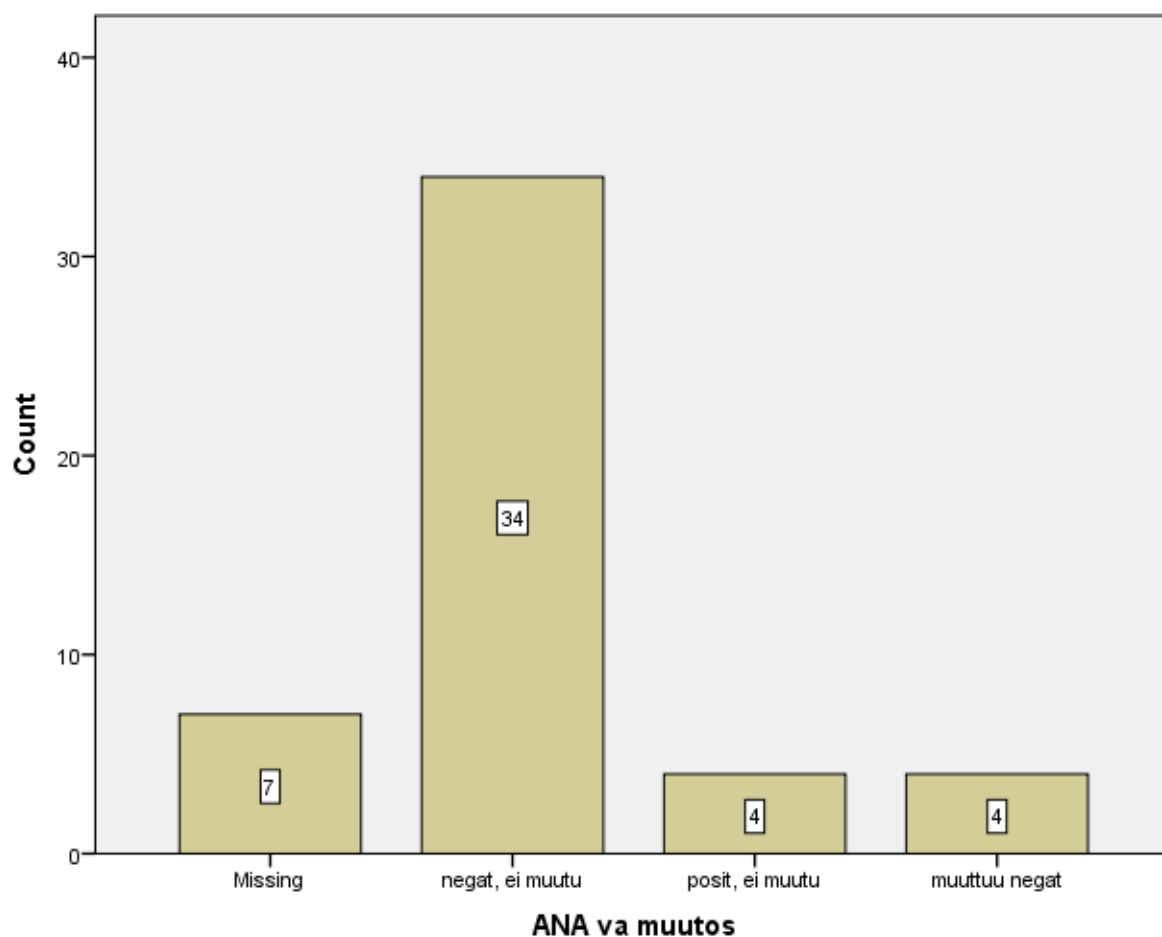
Neljällä potilaalla (8,2 %) vasta-ainetason katsottiin pysyneen positiivisena koko tutkimuksen ajan, eikä varsinaista muutosta ajateltu tapahtuneen. Kahdella heistä vasta-ainetaso oli ensimmäisellä mittauksella positiivinen, mutta muuttui toisella mittauksella negatiiviseksi. Viimeinen mittausarvo oli jälleen positiivinen, ja vasta-ainetason arvioitiin pysyneen siis positiivisena mittausajan puitteissa, eikä muutosta arvioitu tapahtuneen. Heistä yhdellä viimeinen mittauskertaa puuttui, eikä pysyvyyttä pystytty luotettavasti arvioimaan. Ainoastaan yhden potilaan vasta-ainetasot olivat luotettavasti ja kattavasti kaikilla kolmella mittauksella positiiviset.

Kenelläkään tutkimusaineiston potilaista ei havaittu varsinaista positiivista muutosta ANA-vasta-ainetasoissa.

Neljän potilaan (8,2 %) vasta-ainetaso muuttui tutkimuksen seuranta-aikana negatiiviseksi. Heistä kolmella oli kattavasti kolme mittausta, ja kaikkien vasta-ainetaso oli ensimmäisen mittauksen positiivisen tason jälkeen kummallakin kontrollikerralla negatiivinen. Yhdellä potilaalla oli vain kaksi mittausta, joista ensimmäisellä taso oli positiivinen ja toisella

negatiivinen. Luotettavasti muutoksen pysyvyys mittausajan puitteissa voitiin siis havaita kolmella potilaalla.

Seitsemän potilaan (14,3 %) arvoista muutosta ei pystytty arvioimaan kummankin puuttuvan mittaustuloksen vuoksi. Heistä yhdellä ensimmäisen mittauksen vasta-ainetaso oli positiivinen. Kokonaisuudessaan tumavasta-aineiden muutokset ja niiden suunnat, Kuvio 4.



Kuvio 4. ANA-vasta-aineiden muutokset ja niiden suunnat tutkimuspopulaatiossa.

4.2.4. Muut määritetyt vasta-aineet

Ensimmäisellä mittauskerralla otettuja vasta-ainetasoja olivat ENA-vasta-aineet (tuman liukoiset antigeenit), DNA-vasta-aineet (natiivi-DNA), endomycium-vasta-aineet ja transglutaminaasivasta-aineet.

Näistä ENA-vasta-aineet mitattiin niiltä kymmeneltä potilaalta (20,4 % tutkimusaineistosta), joilla tuma-vasta-aineet olivat jossain kontrollinäytteessä olleet positiiviset. Kaikilla ENA-kontrolloiduilla näyte oli negatiivinen. DNA-vasta-aineet määritettiin myös samalta kymmenen tuma-vasta-ainepositiivisen potilaan muodostamalta tutkimusjoukolta. Näistä yhdeksällä anti-DNA oli negatiivinen, mutta yhdellä potilaalla positiivinen.

Transglutaminaasi- ja endomyciumvasta-aineet olivat kaikilla tutkimuspotilailla (koko 49 potilaan muodostama tutkimusjoukko) negatiiviset.

4.3. Muutokset vasta-ainetasoissa ja niiden suhde muuttujiin

Tarkasteltaessa varsinaisia vasta-ainetasoissa tapahtuneita muutoksia käytettiin siis aCL-, b2GP1- ja ANA- vasta-ainetasoja. Muutosten pysyvyyden arviointia varten mitattiin 0-näyte, ensimmäinen kontrollinäyte vuosi 0-näytteen jälkeen, ja toinen kontrollinäyte kaksi vuotta 0-näytteen jälkeen.

4.3.1. Kardioliipiinivasta-aineet

Kardioliipiinivasta-ainetasoissa tapahtunut muutos korreloi kohtausfrekvenssiin ($P=0,037$) ja aivojen kuvannusmuutoksiin ($P=0,037$). Kohtausfrekvenssi vaikutti muutokseen siten, että mitä kauemmin epilepsia oli ollut remissiossa, sitä todennäköisemmin aCL-tasot olivat negatiiviset, ja pysyivät negatiivisina seurannan ajan. Kardioliipiinivasta-ainetasot korreloivat ristiintaulukoitaessa myös kuvannuslöydöksiin siten, että negatiivisilla vasta-ainetasoilla näytti olevan yhteys MRI-kuvien normaalilöydöksiin.

Kardioliipinivasta-ainetasoissa tapahtuneella muutoksella ei ollut merkittävää yhteyttä sukupuoleen, epilepsiatyyppiin, lääkitykseen tai EEG-löydöksiin.

4.3.2. Beta-2-glykoproteiini-1-vasta-aineet

Beta-2-glykoproteiini-1-vasta-ainetasojen muutoksen ja kohtausfrekvenssin välillä havaittiin merkitsevä yhteys ($P=0,002$). Negatiivinen vasta-ainetaso ilman muutoksia näytti tilastollisesti korreloivan matalaan kohtausfrekvenssiin. Mitä kauemmin epilepsiaa oli ollut remissiossa, sitä suurempi oli negatiivisen vasta-ainetason pysyvyys seurannassa.

Muilla muuttujilla (sukupuoli, epilepsiasyndrooma, lääkitys, kuvannuslöydökset tai EEG) ei ollut yhteyttä b2GP1-tasojen muutoksiin.

4.3.3. Tumavasta-aineet

Tumavasta-ainetasojen muutoksella ja sukupuolella havaittiin merkittävä yhteys ($P=0,015$). Positiivinen vasta-ainetaso seurannassa ilman muutosta oli nähtävissä ainoastaan tyttöpotilailla. Pojilla positiivista vasta-ainetasoa ilman muutoksia ei havaittu tutkimusaineistossa ollenkaan. Negatiivinen muutos ANA-vasta-ainetasoissa seuranta-aikana sen sijaan oli havaittavissa ainoastaan pojilla. Tyttöillä vasta-ainetasoissa ei seuranta-aikana kokonaisuudessaan havaittu minkäänlaisia muutoksia.

Muut muuttujat (kohtausfrekvenssi, epilepsiasyndrooma, lääkitys, kuvannus- tai EEG-löydökset) eivät korreloineet ANA-vasta-ainetasojen muutoksiin.

5. POHDINTA

5.1. Keskeiset löydökset

49 lapsipotilaan joukossa vähintään yhden vasta-aineen muutos tutkimusajan puitteissa havaittiin 26:lla lapsella, ja 13:lla oli enemmän kuin yksi poikkeava arvo. Vasta-ainetasoissa tapahtunutta muutosta tutkittiin mittaamalla aCL-, b2GP1- ja ANA-vasta-aineet lasten seeruminäytteistä yhden ja kahden vuoden päästä ensimmäisestä näytteestä.

Kardiolipiinivasta-ainetasoja tarkasteltaessa niiden muutokset olivat hyvin satunnaisia näin pienessä tutkimusaineistossa. Keskeisin löydös aCL-tasojen muutoksissa oli se, että viidellä potilaalla alun perin positiivinen vasta-ainetaso muuttui seurannassa negatiiviseksi, ja se pysyi negatiivisena vuoden seurannan jälkeenkin. Näillä potilailla oli kaikilla käytettävissä kolme mittausarvoa, ja täten tutkimusajan puitteissa negatiivisen muutoksen voidaan ajatella olevan pysyviä näillä potilailla. Tätä muutosta ei kuitenkaan pystytty yhdistämään mihinkään tiettyyn yksittäiseen muuttujaan juuri tässä potilasjoukossa.

Toisaalta pystyttiin osoittamaan, että kardiolipiinivasta-ainetasoissa tapahtunut muutos korreloi koko potilasaineistossa kohtausfrekvenssiin ja aivojen kuvannusmuutoksiin. Koko aineiston tasolla muutosta arvioitiin luokittelemalla varsinaisiksi negatiivisiksi muutoksiksi myös vain kahden näytteen perusteella tulkitut tilanteet, joissa muutos oli siis negatiivinen ilman kolmatta kontrollinäytettä. Näin luokitellussa aineistossa negatiivinen vasta-ainetaso läpi seurannan oli yhteydessä matalaan kohtausfrekvenssiin. Negatiivinen muutos vasta-ainetasoissa havaittiin myös yleisemmin kauemmin kuin vuoden remissiossa olleilla epilepsiapotilailla.

Kardiolipiinivasta-ainetasojen havaittiin korreloivan kohtausfrekvenssin lisäksi kuvannuslöydöksiin. Läpi seurannan pysyneellä negatiivisella vasta-ainetasolla, sekä seurannan aikana tapahtuneella negatiivisella vasta-ainetason muutoksella näytti olevan yhteys MRI-kuvan normaalilöydöksiin.

Beta-2-glykoproteiinitasoissa ei havaittu tutkimusjoukon tasolla merkittäviä muutoksia. Muutokset olivat satunnaisia, eikä harvinaisen esiintymisensä vuoksi yleistettävissä. B2GP1:n osalta havaittiin että suurimmalla osalla tasot olivat ja pysyivät negatiivisina.

Beta-2-glykoproteiini-1-vasta-ainetasojen muutoksen ja kohtausfrekvenssin välillä havaittiin samankaltainen merkitsevä yhteys kuin aCL-tasoillakin. Negatiivinen vasta-ainetaso ilman muutoksia näytti tilastollisesti korreloivan matalaan kohtausfrekvenssiin. Mitä kauemmin epilepsia oli ollut remissiassa, sitä suurempi oli negatiivisen vasta-ainetason pysyvyys seurannassa.

ANA-vasta-ainetasoja tarkasteltaessa merkittävintä oli, että luotettavasti negatiivinen vasta-ainetason muutos ja sen pysyvyys mittausajan puitteissa voitiin havaita kolmella potilaalla. Tämä on koko tutkimusjoukon tasolla todennäköisesti sattumanvarainen löydös. Merkittävää kuitenkin oli, että muutosten suunnalla ja laadulla oli yhteys sukupuoleen siten, että positiivinen vasta-ainetaso seurannassa ilman muutosta oli nähtävissä ainoastaan tyttöpotilailla. Negatiivinen muutos ANA-vasta-ainetasoissa seuranta-aikana sen sijaan oli havaittavissa ainoastaan pojilla. Tämäkin löydös on kuitenkin yleistettävyytensä kannalta pienen aineiston vuoksi kyseenalainen.

Koko aineiston perusteella voidaan sanoa, ettei varsinaisia merkittäviä muutoksia vasta-aineiden tasoissa tutkimusajan puitteissa havaittu. Tiettyjä yhteyksiä mm. kohtausfrekvenssin ja negatiivisten vasta-ainetasojen välillä havaittiin, mutta löydösten merkitsevyys näin pieneen aineistoon perustuen lienee kaikesti vähäinen. Yksi tutkimuskysymyksistä koski kuitenkin epilepsian vaikeahoitoisuutta, ja vasta-ainetasojen muutoksien korrelaatiota kohtausfrekvenssiin. Tähän kysymykseen löytyi suuntaa-antava vastaus kardiolipiini- ja beta-2-glykoproteiini-1-tasojen muutoksista ja niiden yhteydestä kohtausfrekvenssiin. Tutkimuksen perusteella voitaisiin siis olettaa matalien vasta-ainetasojen, ja niiden pysyvyyden korreloivan matalaan kohtausfrekvenssiin, ja täten siis kaikesti epilepsian hyvään hoitovasteeseen.

Muiden mitattujen vasta-aineiden (ENA-vasta-aineet, DNA-vasta-aineet, endomycium-vasta-aineet ja transglutaminaasi-vasta-aineet) osalta merkittäviä tai huomionarvoisia tutkimuslöydöksiä ei ollut.

5.2. Tutkimuksen heikkoudet ja vahvuudet

Tutkimuksen ehdoton heikkous oli lähtökohtaisesti aineiston pieni koko (49 tutkimuspotilasta). Muutokset vasta-ainetasoissa olivat satunnaisia, ja pienen aineiston vuoksi niiden todellisen arvon arviointi on epäluotettavaa.

Aineiston pientä kokoa korosti lisäksi lukuisten seurantanäytteiden puuttuminen. Tutkimusjoukko oli todellisuudessa erittäin pieni, koska merkittävältä osalta potilasjoukkoa puuttui yksi tai kaksi seurantanäytettä. Ensimmäisellä mittauskerralla verinäytteiden otto oli koko tutkimusjoukon kattavaa. Seuraavalla mittauskerralla näytteen antaneiden potilaiden joukko oli selkeästi pienempi (85,7 % potilaista antoi 2. näytteen) kuin ensimmäisellä, ja kolmannella kerralla näyte puuttui jo huomattavalta osalta tutkimusjoukkoa (ainoastaan 51 % potilaista edustettuna). Vasta-ainetasoissa havaittujen muutosten luotettavaa arviointia varten olisi pitänyt pystyä kattavasti arvioimaan kaikki kolme näytettä. Muutoksien pysyvyyden arvioinnissa jouduttiin monilla potilailla käyttämään näytteiden puuttumisen vuoksi vain kahta näytettä, joka todennäköisesti vääristi tuloksia. Muutosten pysyvyyden arviointi kärsi siis huomattavasti heikosta edustavuudesta.

Huomionarvoista on kaikeksi myös se, että potilaat oli kerätty ainoastaan Tampereen Yliopistollisen sairaalan potilasjoukosta, joten maantieteellisesti edustettuna oli varsin pieni alue.

Aineistossa itsessään vahvuus oli potilaiden tasainen sukupuolijakauma. Potilaat olivat kaikki lapsi-ikäisiä. Potilaiden tiedot kerättiin tarkasti vakioidulle ja kaikille samanlaiselle lomakkeelle, joka täytettiin jokaisesta potilaasta. Anamnestiset tiedot koottiin siis huolellisesti ja luotettavasti. Tutkimuksia oli tehty myös kattavasti (EEG, MRI, verinäytteet, kliininen tutkimus). Näytteiden keräämisessä noudatettiin tavanomaista luotettavaa protokollaa. Näytteiden analysointi tapahtui luotettavilla menetelmillä.

5.3. Tulokset suhteessa kirjallisuuteen

Lasten epilepsian immunologisesta taustasta ei kokonaisuudessaan ole vielä tarpeeksi kattavaa tutkimusta. Suurin osa tutkimuksista on tehty aikuisilla, eikä niitä voi soveltaa lapsuusiän epilepsioihin. Aikaisemmat tutkimustulokset ovat keskenäänkin jopa ristiriitaisia, eikä varsinaista konsensusta ole saavutettu. Tämä tutkimus lähinnä vahvistaa johtopäätöstä siitä, että vasta-ainetasojen muutoksien ja epilepsian yhteys on lähinnä vain assosiatiivinen. Poikkeuksia tästä ovat tietyt epilepsiaoireyhtymät, joiden autoimmuunitausta on kyetty selvittämään (esimerkkinä tästä Rasmussenin enkefaliitti).

Vasta-ainetasoihin todennäköisesti vaikuttavat monet seikat, joista osa toki on vielä pitkälti selvittämättä. Nykytiedon valossa joidenkin epilepsiatyyppien taustan on ajateltu juontavan juurensa suoraan keskushermostoon vaikuttaviin vasta-aineisiin. Näitä on päästy jo tunnistamaan, ja yhdistämään tiettyihin syndroomiin. Myös tulehdusprosessien ja epilepsian yhteyttä on pyritty selvittämään, ja sitä kautta ymmärtämään epilepsian syntyprosessia.

5.4. Lopuksi

Tässä tutkimuksessa kyettiin siis osoittamaan, että lasten epilepsiaan liittyy mahdollisesti tiettyjä vasta-aineiden seerumipitoisuuksia. Näiden vasta-aineiden pysyvyys ja ennustettavuus suhteessa epilepsian vaikeahoitoisuuteen sen sijaan ei yksiselitteisesti tämän tutkimuksen pohjalta ole yleistettävissä. Tähän vaikutti tutkimusjoukon pieni koko, ja näin ollen rajallisuus suuremman potilasjoukon edustajana. Yhteys lasten epilepsian ja tiettyjen vasta-aineiden välillä on todennäköisesti vain assosiatiivinen, eikä yleistettävissä suuriin potilasjoukkoihin. Tästä poikkeuksena ovat tietyt epilepsiaoireyhtymät, joiden autoimmuunitausta on kyetty selvittämään. Tulevaisuudessa aihetta koskevaa tutkimustietoa tarvitaan todennäköisesti lisää lukuisten selvittämättömien kysymysten ratkaisemiseksi.

6. LÄHTEET

- Aarli JA. Immunological aspects of epilepsy. *Brain Dev* 1993;15:41-9.
- Angelini L, Granata T, Zibordi F, Binelli S, Zorzi G ja Besana C. Partial seizures associated with antiphospholipid antibodies in childhood. *Neuropediatrics* 1998;29:249-53.
- Antunes MC, D'Cruz D ja Hughes GR. Neurological manifestations of anti-phospholipid (Hughes) syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2004;22:771-5.
- Appenzeller S, Cendes F ja Costallat LT. Epileptic seizures in systemic lupus erythematosus. *Neurology* 2004;63:1808-12:Nov 23.
- Avcin T. Antiphospholipid syndrome in children. *Curr Opin Rheumatol* 2008;20:595-600.
- Bartolomei F, Boucraut J, Barrie M, ym. Cryptogenic partial epilepsies with anti-GM1 antibodies: a new form of immune-mediated epilepsy?. *Epilepsia* 1996;37:922-6.
- Basaran N, Hincal F, Kansu E ja Ciger A. Humoral and cellular immune parameters in untreated and phenytoin-or carbamazepine-treated epileptic patients. *Int J Immunopharmacol* 1994;16:1071-7.
- Bien CG ja Scheffer IE. Autoantibodies and epilepsy. *Epilepsia* 2011;52:18-22:May.
- Bostantjopoulou S, Hatzizisi O, Argyropoulou O, ym. Immunological parameters in patients with epilepsy. *Funct Neurol* 1994;9:11-5.
- Bouma PA. Determining the prognosis of childhood epilepsies by establishing immune abnormalities. *Clin Neurol Neurosurg* 1992;94:S54-6.
- Brey RL, Hart RG, Sherman DG ja Tegeler CH. Antiphospholipid antibodies and cerebral ischemia in young people. *Neurology* 1990;40:1190-6.
- Brey RL, Muscal E ja Chapman J. Antiphospholipid antibodies and the brain: a consensus report. *Lupus* 2011;20:153-7:Feb.
- Cimaz R ja Guerrini R. Epilepsy in lupus. *Lupus* 2008;17:777-9.
- Cimaz R, Meroni PL ja Shoenfeld Y. Epilepsy as part of systemic lupus erythematosus and systemic antiphospholipid syndrome (Hughes syndrome). *Lupus* 2006;15:191-7.
- Cimaz R, Romeo A, Scarano A, ym. Prevalence of anti-cardiolipin, anti-beta2 glycoprotein I, and anti-prothrombin antibodies in young patients with epilepsy. *Epilepsia* 2002;43:52-9.
- Constantin T, Kalovics T, Ponyi A, ym. Prevalence of antiphospholipid and antinuclear antibodies in children with epilepsy. *Med Sci Monit* 2009;15:R164-9:Apr.
- Debourdeau P, Gerome P, Zammit C, ym. Frequency of anticardiolipin, antinuclear and anti beta2GP1 antibodies is not increased in unselected epileptic patients: a case-control study. *Seizure* 2004;13:205-7.
- Eriksson K, Peltola J, Keranen T, Haapala AM ja Koivikko M. High prevalence of antiphospholipid antibodies in children with epilepsy: a controlled study of 50 cases. *Epilepsy Res* 2001;46:129-37.
- Errichiello L, Perruolo G, Pascarella A, ym. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase (GAD) in focal and generalized epilepsy: A study on 233 patients. *J Neuroimmunol* 2009;211:120-3:Jun 25.

- Fois A, Vascotto M, Di Bartolo RM ja Di Marco V. Celiac disease and epilepsy in pediatric patients. *Childs Nerv Syst* 1994;10:450-4.
- Gerasimova MM ja Nikitina OA. [The role of antibodies to phospholipids in the pathogenesis of symptomatic epilepsy]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2007;107:55-7.
- Gilhus NE ja Lea T. IgG subclasses in epileptic patients treated with phenytoin. *J Neurol* 1989;236:149-52.
- Harris EN, Gharavi AE, Asherson RA ja Hughes GR. Antiphospholipid antibodies: a review. *Eur J Rheumatol Inflamm* 1984;7:5-8.
- Hunt BJ. Pediatric antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome. *Semin Thromb Hemost* 2008;34:274-81.
- Irani SR, Bien CG ja Lang B. Autoimmune epilepsies. *Curr Opin Neurol* 2011;24:146-53:Apr.
- Kalashnikova LA, Dobrynina LA, Aleksandrova EN ja Novikov AA. [Neurological appearances of primary antiphospholipid syndrome]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2005;Korsakoa:19-24.
- Lehtimäki KA, Peltola J, Liimatainen S, Haapala AM ja Arvio M. Cardiolipin and 2-Glycoprotein I antibodies associate with cognitive impairment and seizure frequency in developmental disorders. *Seizure* 2011;20:438-41:Jul.
- Liimatainen S ja Peltola J. Epilepsy associated with glutamic acid decarboxylase antibody (GADA). *Eur J Neurol* 2012;19:799:Jun.
- Liimatainen S, Peltola M, Fallah M, Kharazmi E, Haapala AM ja Peltola J. The high prevalence of antiphospholipid antibodies in refractory focal epilepsy is related to recurrent seizures. *Eur J Neurol* 2009;16:134-41:Jan.
- Markic J, Mestrovic M, Valic I, Sapunar A ja Bosnjak N. Frequency of anticardiolipin, antinuclear and anti-beta2 glycoprotein I antibodies in children with epilepsy. *Coll Antropol* 2007;31:739-42.
- Muscal E ja Brey RL. Antiphospholipid syndrome and the brain in pediatric and adult patients. *Lupus* 2010;19:406-11:Apr.
- Pacifici R, Paris L, Di Carlo S, Pichini S ja Zuccaro P. Immunologic aspects of carbamazepine treatment in epileptic patients. *Epilepsia* 1991;32:122-7.
- Peltola J, Kulmala P, Isojarvi J, ym. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in patients with therapy-resistant epilepsy. *Neurology* 2000;55:46-50.
- Peltola JT, Haapala A, Isojarvi JI, ym. Antiphospholipid and antinuclear antibodies in patients with epilepsy or new-onset seizure disorders. *Am J Med* 2000;109:712-7.
- Pengiran Tengah DS, Wills AJ ja Holmes GK. Neurological complications of coeliac disease. *Postgrad Med J* 2002;78:393-8.
- Rantala H, Kulmala P, Savola K ja Knip M. Absence of glutamic acid decarboxylase antibodies in childhood epilepsies. *Pediatr Neurol* 1999;21:794-6.
- Ranua J, Luoma K, Auvinen A, ym. Antimitochondrial antibodies in patients with epilepsy. *Epilepsy Behav* 2005;7:95-7.
- Ranua J, Luoma K, Auvinen A, ym. Celiac disease-related antibodies in an epilepsy cohort and matched reference population. *Epilepsy Behav* 2005;6:388-92.
- Ranua J, Luoma K, Auvinen A, ym. Serum IgA, IgG, and IgM concentrations in patients with epilepsy and matched controls: a cohort-based cross-sectional study. *Epilepsy Behav* 2005;6:191-5.

- Ranua J, Luoma K, Peltola J, ym. Anticardiolipin and antinuclear antibodies in epilepsy--a population-based cross-sectional study. *Epilepsy Res* 2004;58:13-8.
- Rogers SW, Andrews PI, Gahring LC, ym. Autoantibodies to glutamate receptor GluR3 in Rasmussen's encephalitis. *Science* 1994;265:648-51.
- Shoenfeld Y, Lev S, Blatt I, ym. Features associated with epilepsy in the antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 2004;31:1344-8.
- Sorrell TC ja Forbes IJ. Depression of immune competence by phenytoin and carbamazepine. Studies in vivo and in vitro. *Clin Exp Immunol* 1975;20:273-85.
- van Engelen BG, Renier WO ja Weemaes CM. Immunoglobulin treatment in human and experimental epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:72-5.
- Verrot D, San-Marco M, Dravet C, ym. Prevalence and signification of antinuclear and anticardiolipin antibodies in patients with epilepsy. *Am J Med* 1997;103:33-7.
- Verrotti A, Greco R, Altobelli E, Latini G, Morgese G ja Chiarelli F. Anticardiolipin, glutamic acid decarboxylase, and antinuclear antibodies in epileptic patients. *Clin Exp Med* 2003;3:32-6.
- Vezzani A, French J, Bartfai T ja Baram TZ. The role of inflammation in epilepsy. *Nat Rev Neurol* 2011;7:31-40:Jan.
- Vezzani A ja Friedman A. Brain inflammation as a biomarker in epilepsy. *Biomark med* 2011;5:607-14:Oct.
- Villani F ja Avanzini G. The use of immunoglobulins in the treatment of human epilepsy. *Neurol Sci* 2002;23:S33-7.
- Vincent A, Bien CG, Irani SR ja Waters P. Autoantibodies associated with diseases of the CNS: new developments and future challenges. *Lancet neurol* 2011;10:759-72:Aug.
- Yoshimura K, Konishi T, Kotani H, Wakiguchi H ja Kurashige T. Prevalence of positive anticardiolipin antibody in benign infantile convulsion. *Brain Dev* 2001;23:317-20.